

PENURUNAN KADAR Mn^{2+} DENGAN BAKTERI PSEUDOMONAS PUTIDA

Suprihatin

Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri UPN "Veteran" Jawa Timur
Jl. Raya Rungkut Madya, Gunung Anyar Surabaya 60294

Abstrak

Penanganan limbah pabrik cair sebelum dibuang ke lingkungan membutuhkan suatu metode yang bersifat tepat guna. Metode penanganan limbah cair tersebut mampu mengurangi atau menghilangkan konstituen yang tidak diijinkan pada limbah tersebut. Dan metode tersebut pelaksanaannya sangat aplikatif dan dari segi ekonomi tidak memberatkan perusahaan. Metode yang biasanya digunakan untuk pengolahan limbah pabrik meliputi metode pengenceran dengan air agar konsentrasi limbah lebih encer, penambahan senyawa kimia lain agar terbentuk endapan logam berat dan pengambilan logam berat dengan menggunakan mikroorganisme. Penelitian ini menggunakan metode pengambilan logam berat dengan menggunakan mikroorganisme Pseudomonas putida untuk menurunkan konsentrasi Mn^{2+} .

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menurunkan kadar Mn^{2+} dengan menggunakan bakteri Pseudomonas putida. Sedangkan pembatasan masalah pada penelitian ini ditekankan pada penurunan kadar Mn^{2+} .

Prinsip dari penelitian ini adalah mengukur kadar Mn^{2+} sisa setelah waktu proses dengan alat spektrofotometer kemudian mencari persentase penurunan konsentrasinya.

Berdasarkan hasil percobaan didapat bahwa :

- 1. Bakteri Pseudomonas putida dapat mengoksidasi Mn^{2+} menjadi Mn^{4+} sehingga konsentrasi Mn^{2+} dalam larutan dapat berkurang*
- 2. Penurunan kadar Mn^{2+} yang tertinggi adalah pada konsentrasi Mn^{2+} awal 2 mg/l, yaitu sebesar 70,82 %*

Pendahuluan

Penanganan limbah pabrik cair sebelum dibuang ke lingkungan membutuhkan suatu metode yang bersifat tepat guna. Dikatakan tepat apabila metode penanganan limbah cair tersebut mampu mengurangi atau menghilangkan konstituen yang tidak diijinkan pada limbah tersebut. Metode tersebut dikatakan berguna apabila pelaksanaannya sangat aplikatif dan dari segi ekonomi tidak memberatkan perusahaan.

Konstituen didalam limbah cair yang perlu dikurangi adalah ion-ion logam berat yang tidak dapat diuraikan secara alamiah. Akibatnya manusia sebagai rantai makanan terakhir mendapat akumulasi logam berat paling besar.

Metode yang biasanya digunakan untuk pengolahan limbah pabrik biasanya meliputi metode pengenceran dengan air agar konsentrasi limbah lebih encer, penambahan senyawa kimia lain agar terbentuk endapan logam berat, dan pengambilan logam berat dengan menggunakan mikroorganisme.

Penelitian ini menggunakan metode pengambilan logam berat dengan mikroorganisme *Pseudomonas putida* untuk menurunkan Mn^{2+} .

Limbah yang digunakan adalah limbah simulasi ($MnSO_4$ (l)) karena sulit untuk menentukan kadar Mn^{2+} dalam pabrik yang kandungan limbahnya sangat variatif dan berubah komposisinya setiap waktu.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menurunkan kadar Mn^{2+} dengan menggunakan bakteri *Pseudomonas putida*.

Manfaat Penelitian

Dari penelitian penurunan kadar Mn^{2+} dengan menggunakan bakteri *Pseudomonas putida* ini diharapkan dapat memiliki manfaat antara lain merupakan nilai tambah dari penggunaan bakteri untuk pengolahan limbah.

Tinjauan Umum

Sifat morfologi bakteri *Pseudomonas putida*

Bakteri *Pseudomonas putida* termasuk heterotrof, gram-negatif, bentuknya berupa batang, aerob, tumbuh pada temperatur maksimum 30-35 °C, dan ukuran bakteri 0,5 - 1,0 μm .

Bakteri-bakteri yang dapat mengoksidasi Mn^{2+} antara lain *Pseudomonas putida*, *Leptothrix discophora* SS-1, dan *Bacillus sp strain* SG-1.

Pseudomonas putida merupakan salah satu jenis proteobakteri yang heterotik dan aerob . Oksidasi Mn^{2+} telah dipelajari dengan teknik genetika dan biokimia. *P. putida* MnB1 (biasanya disebut *P.manganoxydans*) diisolasi dari lapisan mangan yang menempel pada pipa air oleh Schweisfurth (1973). *P putida* GB-1 diisolasi oleh Nealson (1998) dimana bakteri ini dulunya disebut *P. fluorescens*.

Penurunan Mn dengan oksidasi dapat menggunakan mikroorganisme sebagai katalis

Proses oksidasi Mn^{2+} dengan menggunakan MnB1 mempunyai karakteristik yang sama dengan GB-1. Aktivitas yang paling tinggi terjadi pada fase pertumbuhan mula-mula hal ini terjadi karena membutuhkan banyak nutrisi pada pertumbuhannya. Aktivitas proses oksidasi bergantung pada konsentrasi oksigen pada kultur selama pertumbuhan. Pada jenis GB-1 , aktivitas per sel akan meningkat dua kali lipat seiring dengan bertambahnya konsentrasi oksigen 20-30 %. Kedua jenis bakteri ini melakukan oksidasi pada permukaan sel. Proses oksidasi Mn^{2+} tergantung pada enzim, pH optimum (pH 7), dan temperatur optimum (35 °C). (Brouwers, G.J., 2000)

Proses Pengolahan Limbah

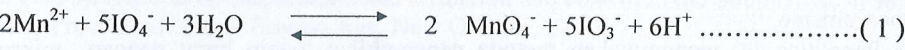
Pengolahan air limbah digolongkan berdasarkan cara pengolahannya, yaitu :

- a. Pengolahan secara biologis
- b. Pengolahan secara kimiawi

Pengolahan limbah secara kimiawi digunakan metode antara lain netralisasi dan koagulasi.

Mangan

Mangan dalam jumlah kecil biasanya ditetapkan secara kolorimetri dengan oksidasi menjadi asam permanganat. Zat pengoksidasi yang lazim digunakan adalah ammonium persulfat dalam medium asam fosfat-asam nitrat dengan hadirnya sedikit perak nitrat sebagai katalis, atau kalium periodat. Manfaat periodat dalam suasana asam (asam nitrat atau sulfat) digunakan untuk mengoksidasi ion mangan secara kuantitatif menjadi asam permanganat . Menurut persamaan reaksi :



Larutan itu hendaknya mengandung tidak lebih dari pada 2 mg mangan per 100 cm^3 , kalau lebih besar dari nilai tersebut warnanya akan terlalu gelap, dengan demikian membandingkan warnanya akan sulit.

Fase Pertumbuhan Bakteri

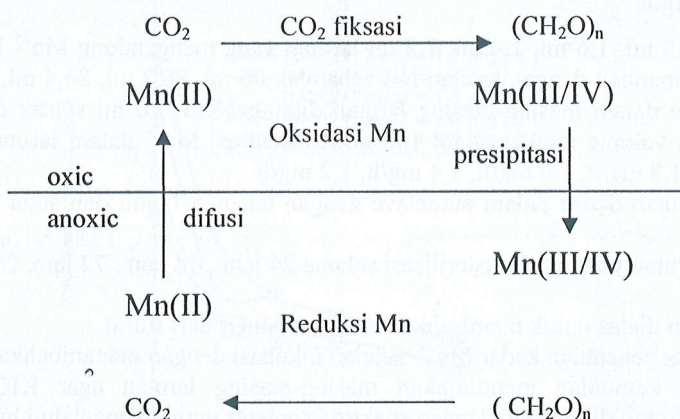
Waktu yang dibutuhkan oleh suatu mikroba untuk berkembang biak biasanya disebut dengan generation time atau doubling time (waktu penggandaan). Untuk semua mikroba tampak adanya suatu pola pertumbuhan yang sama. Pola itu dapat dikemukakan dalam beberapa fase.

Dari suatu piaraan bakteri yang cukup tua diambil sedikit bakteri untuk ditanam pada suatu medium cair yang cocok. Jumlah koloni yang tumbuh dalam medium “agar” yang berfase padat dapat dihitung. Karena jumlah ini biasanya sangat besar, maka cukup diambil fase logaritmanya, hal ini bertujuan agar pelukisan kurva menjadi mudah.

Landasan Teori

Mn^{2+} dapat teroksidasi menjadi Mn^{4+} karena adanya katalisator berupa enzim yang diekskresi oleh bakteri *Pseudomonas putida*, dengan persamaan reaksi sebagai berikut :
Reaksi oksidasi : $Mn^{2+} + \frac{1}{2} O_2 + H_2O \rightarrow MnO_2 + 2H^+$

Dalam kondisi normal semakin banyak bakteri yang tumbuh maka penurunan kadar Mn^{2+} semakin besar karena Mn^{2+} yang teroksidasi oleh enzim semakin besar pula. Reaksi oksidasi mangan dikatalis oleh enzim dari organisme *Pseudomonas putida*. Mekanisme oksidasi tersebut dapat dijelaskan seperti terlihat dalam gambar 1. *Pseudomonas putida* merupakan bakteri aerob yang mensintesa organic carbon dengan oksigen sebagai sumber energi. Dengan demikian seperti yang terlihat pada siklus Mn^{2+} terkait dengan siklus karbon. Pada saat fiksasi CO_2 menjadi $(CH_2O)_n$, Mn^{2+} teroksidasi menjadi Mn^{4+} . Siklus tersebut terjadi pada lingkungan yang terdapat oksigen (oxic environment). Dari lingkungan oxic, $(CH_2O)_n$ mengalami proses presipitasi (pengendapan) menuju lingkungan anoxic. Pada lingkungan anoxic terjadi reaksi balik dari $(CH_2O)_n$ menjadi CO_2 dan pada saat bersamaan terjadi reaksi reduksi Mn^{4+} menjadi Mn^{2+} .



Gambar 1 Siklus Mn^{2+} disekitar batas oxic dan anoxic (Brouwers, G., J., 2000)

Siklus karbon dapat dijelaskan sebagai berikut : Di lingkungan aerob, CO_2 disintesa menjadi senyawa keton oleh bakteri aerob yang bersifat fitoplankton reaksi $H_2O + CO_2 \rightarrow (CH_2O)_n + O_2$. Hasil metabolisme bakteri aerob tersebut menyebabkan oksidasi Mn^{2+} menjadi Mn^{4+} . Bakteri aerob mempunyai lama hidup tertentu dimana bakteri akan mati dan mengalami pengendapan/penumpukan yang pada akhirnya diuraikan oleh bakteri anaerob, dimana senyawa keton yang terkandung pada membran bakteri tersebut kembali disintesa dalam lingkungan anoxic menjadi karbondioksida.

Dan karbondioksida lepas ke lingkungan aerob secara difusi. (Brouwers, G., J., 2000)

Metode Penelitian.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Kalium periodat / KIO_4 (BM = 230 gr/mol)
2. Mangan (II) sulfat ($MnSO_4 \cdot H_2O$) pro analisis (BM = 170 gr/mol)
3. Asam fosfat / H_3PO_4 85 % pro analisis (BM = 98 gr/mol)
4. Nutrient agar (NA = 20 g/l)
5. Nutrient broth (NB = 8 g/l)
6. Bakteri *Pseudomonas putida* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Airlangga Surabaya

Peubah Yang Dikerjakan

Prinsip dari penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi Mn^{2+} akhir yang dapat diturunkan oleh bakteri *Pseudomonas putida*.

Variabel-variabel yang akan diteliti adalah :

1. **Kondisi yang ditetapkan :**

- bahan yang akan diturunkan kadarnya, mangan (II) sulfat
- pH : 7
- Jenis bakteri : *Pseudomonas putida* .
- Suhu : 35 °C.

2. **Variabel yang dikerjakan :**

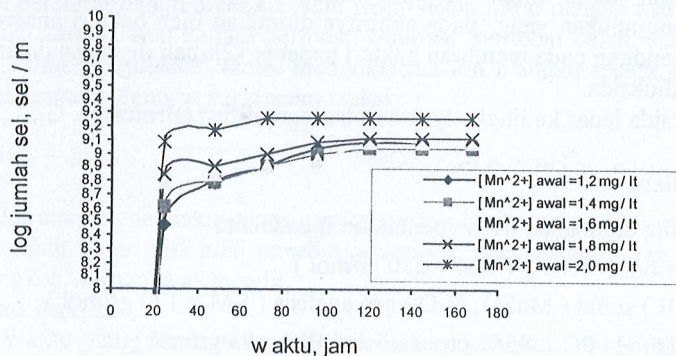
- Waktu proses : 0 , 24 , 48 , 72 , 96 dan 120 jam.
- Kadar mangan (II) sulfat : 1,2 ; 1,4 ; 1,6 ; 1,8 dan 2 mg/lit .

Pelaksanaan Penelitian

- Memipet 2 ml, 1,8 ml, 1,6 ml, 1,4 ml, 1,2 ml larutan yang mengandung Mn^{2+} 100 mg/lit yang masing-masing ditambah dengan larutan NB sebanyak 86 ml, 86,2 ml, 86,4 ml, 86,6 ml , 86,8 ml selanjutnya ke dalam masing-masing larutan ditambahkan 10 ml starter dan 2 ml asam fosfat sehingga volume total menjadi 100 ml. Konsentrasi Mn^{2+} dalam larutan ini sekarang menjadi 2 mg/lit, 1,8 mg/lit, 1,6 mg/lit, 1,4 mg/lit, 1,2 mg/lit
- Mensterilisasi larutan diatas dalam autoclave dengan tekanan 1 atm dan suhu 121 °C selama 2,5 jam
- Menginkubasi larutan yang telah disterilisasi selama 24 jam , 48 jam , 72 jam, 96 jam , dan 120 jam
- Menyaring larutan diatas untuk memisahkan endapan MnO_2 dari filtrat
- Melakukan analisa penentuan kadar Mn^{2+} setelah inkubasi dengan menambahkan 2 gram KIO_4 ke dalam filtrat kemudian mendidihkan masing-masing larutan agar KIO_4 dapat larut sempurna. Pengukuran dilakukan dengan spektrofotometer untuk mengetahui harga absorbansi masing-masing larutan .

Harga konsentrasi Mn^{2+} sisa didapatkan dengan memasukkan harga absorbansi ke dalam persamaan regresi yang telah didapatkan.

Gambar hubungan antara waktu dan jumlah sel untuk masing-masing kadar Mn^{2+} pada medium nutrien agar seperti yang terlihat pada gambar 2 berikut :

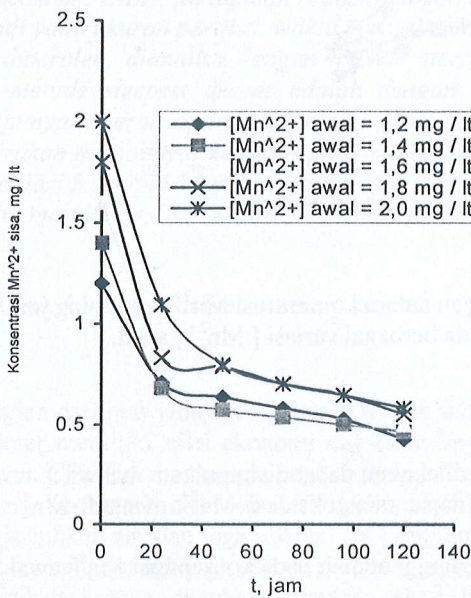


Gambar 2 Pertumbuhan sel pada media agar pada berbagai variasi konsentrasi Mn^{2+}

Hubungan antara waktu proses terhadap jumlah sel yang tumbuh pada media agar pada berbagai konsentrasi Mn^{2+} menunjukkan bahwa pada waktu 24 jam, jumlah sel yang tumbuh pada konsentrasi Mn^{2+} awal 1,2 mg/lit adalah 3×10^8 sel/ml. Jika konsentrasi Mn^{2+} awal dinaikkan

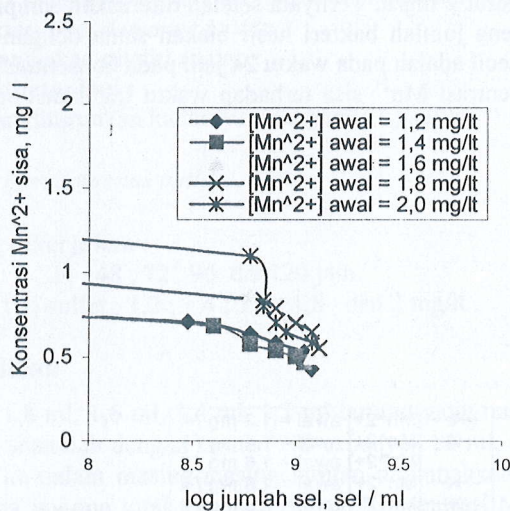
menjadi 1,4 mg/l, jumlah sel yang tumbuh adalah 4×10^8 sel/ml. Dari data-data di atas terlihat semakin besar konsentrasi Mn^{2+} awal dan semakin lama waktu proses maka semakin banyak jumlah sel yang tumbuh. Dari gambar 2 diatas dapat dilihat, jumlah sel yang terbesar pada waktu 120 jam pada konsentrasi substrat 2 mg/l. Ternyata setelah diteruskan sampai 168 jam jumlah sel yang didapatkan konstan karena jumlah bakteri hasil biakan sama dengan jumlah bakteri yang mati, dan jumlah sel yang terkecil adalah pada waktu 24 jam pada konsentrasi 1,2 mg/l.

Hubungan antara konsentrasi Mn^{2+} sisa terhadap waktu inkubansi seperti tercantum pada gambar 3 berikut ini :



Gambar 3 Hubungan antara konsentrasi Mn^{2+} sisa vs waktu pada berbagai variasi $[Mn^{2+}]$ awal

Hubungan antara konsentrasi Mn^{2+} sisa dengan waktu proses menunjukkan bahwa hasil persen penurunan Mn^{2+} tertinggi (maksimal) yaitu 70,82 %, didapatkan pada konsentrasi Mn^{2+} awal 2 mg/l dan waktu proses 120 jam. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi Mn^{2+} awal dan semakin lama waktu proses maka semakin banyak enzim yang dikeluarkan oleh bakteri sehingga kemampuan mengoksidasi Mn^{2+} semakin besar. Ketersediaan bahan makanan yang cukup menghasilkan energi yang cukup untuk proses metabolisme, energi diperoleh dari hasil reaksi oksidasi Mn^{2+} karena *Pseudomonas putida* adalah bakteri heterotrof yang mensyaratkan senyawa organik sebagai sumber karbonnya untuk memperoleh energi. Hubungan antara konsentrasi Mn^{2+} sisa dengan log jumlah sel dapat dilihat pada gambar 4 berikut :



Gambar 4. Hubungan antara konsentrasi Mn^{2+} sisa vs log jumlah sel pada berbagai variasi $[\text{Mn}^{2+}]$ awal.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Bakteri *Pseudomonas putida* dapat mengoksidasi Mn^{2+} menjadi Mn^{4+} sehingga konsentrasi Mn^{2+} dalam larutan dapat berkurang.
2. Penurunan kadar Mn^{2+} yang tertinggi adalah pada konsentrasi Mn^{2+} awal 2 mg/l, yaitu sebesar 70,82 %.
3. Semakin tinggi konsentrasi Mn^{2+} awal maka semakin tinggi persen penurunan kadar Mn^{2+} .

Daftar Pustaka

- Barnett, Margaret, 1990, "Microbiology Laboratory Exercises", 3rd edition, Wm. C. Brown Publishers, England
- Bergey's, 1994, "Determinative Bacteriology", 9th edition, Williams & Wilkins, Sydney
- Brouwers, G.J., 2000, "Geomicrobiology Journal : Bacterial Mn^{2+} Oxidising Systems and Multicopper Oxidases : An Overview of Mechanisms and Function", Leiden Institute of Chemistry, Netherland
- Cappucino, G., James, 1990, "Microbiology A Laboratory Manual", 2nd edition, Wm. C. Brown Publishers, England
- Dwidjoseputro, D., 1994, "Dasar-Dasar Mikrobiologi", edisi ke-12, Djambatan, Jakarta
- Hadioetomo, R.S., 1993, "Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek : Teknik Dan Prosedur Dasar Laboratorium", edisi ke-3, PT. Gramedia, Jakarta
- Pelczar, J., Michael, 1990, "Dasar-Dasar Mikrobiologi", edisi ke-1, jilid 1, Universitas Indonesia, Jakarta
- Stanbury, P.F., 1984, "Principles of Fermentation Technology", Pergamon Pers, Oxford
- Vogel, A.I., 1994, "Buku Ajar Vogel : Kimia Analisa Kuantitatif Anorganik", edisi ke-4, Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Volk & Wheeler, 1988, "Mikrobiologi Dasar", edisi ke-5, jilid 1, Erlangga, Jakarta